



ARTIGO

Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre a vassoura de bruxa do cacau

Thais Carvalho Cerqueira Chaussê¹, Daniel Bomfim Silva Dias¹, Stela Dalva Vieira Midlej Silva²,
João de Cássia do Bomfim Costa² e Larissa Corrêa do Bomfim Costa^{1*}

Recebido: 07 de maio de 2011 Recebido após revisão: 23 de agosto de 2011 Aceito: 10 de outubro de 2011
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1906>

RESUMO: (Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre a vassoura de bruxa do cacau). A vassoura de bruxa do cacau (*Theobroma cacao*), causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa* (= *Crinipellis perniciosa*), constitui um dos principais problemas fitossanitários da cacauicultura. Visando contribuir de forma alternativa para o controle dessa doença, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações dos óleos essenciais das espécies aromáticas *Ocimum selloi* (alfavaquinha), *Mentha arvensis* (menta japonesa) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) sobre o crescimento miceliano e germinação dos basidiósporos de *M. perniciosa*. Os óleos essenciais foram extraídos pelo processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger. Para avaliação do crescimento miceliano, os óleos essenciais foram adicionados ao meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) fundente e vertido em placas de Petri. Os tratamentos foram compostos por sete dosagens de cada óleo, nas concentrações de 0, 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25 e 1,50 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ com seis repetições cada, em delineamento inteiramente casualizado. As mesmas concentrações dos óleos essenciais solubilizados em água destilada foram utilizadas no teste de germinação dos basidiósporos do fungo. Observou-se uma redução gradativa do crescimento miceliano de *M. perniciosa* com doses crescentes dos óleos essenciais, obtendo-se inibição total a partir da concentração de 0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para todos os óleos essenciais testados. Também foi observada inibição total da germinação de *M. perniciosa* nas concentrações de 1,00 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para o óleo de *M. arvensis*, e 0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para os óleos de *O. selloi* e *S. aromaticum*.

Palavras-chave: controle alternativo, *Moniliophthora perniciosa*, *Ocimum selloi*, *Mentha arvensis*, *Syzygium aromaticum*.

ABSTRACT: (Antifungal activity of essential oils over cocoa witches' broom). The cocoa (*Theobroma cacao*) witches' broom, caused by *Moniliophthora perniciosa* (= *Crinipellis perniciosa*), is the one of the worst diseases of cocoa plantations worldwide. The aim of this work is to contribute with an alternative to control this disease, therefore it was studied the effect of different concentrations of essential oils from the aromatic species *Ocimum selloi*, *Mentha arvensis* and *Syzygium aromaticum* on the mycelial growth and germination of basidiospores of *M. perniciosa*. Essential oils were extracted by hydro distillation in a Clevenger apparatus. Essential oils were added in melted culture medium BDA (potato dextrose agar) and poured into Petri plates for evaluation of mycelial growth. The treatments consisted of seven concentrations of each oil: 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25 and 1.50 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ with six replicates each in a randomized design. The same amounts of essential oils dissolved in distilled water were used to test the basidiospores germination of the fungus. There was a gradual reduction in the rate of mycelial growth of *M. perniciosa* with increasing doses of essential oils, achieving 100% inhibition of mycelial growth when used at a concentration of 0.75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ for all the essential oils tested. There was total inhibition of germination of *M. perniciosa* at concentrations of 1.00 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ for oil of *M. arvensis*, and 0.75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ for oil of *O. selloi* e *S. aromaticum*.

Key words: alternative control, *Moniliophthora perniciosa*, *Ocimum selloi*, *Mentha arvensis*, *Syzygium aromaticum*.

INTRODUÇÃO

Até a década de 1990, o Brasil era o segundo maior produtor mundial de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.), planta da família Malvaceae (Alverson *et al.* 1999, APG II 2003), originária do continente Sul Americano. Só o estado da Bahia chegou a produzir aproximadamente 400.000 t de sementes secas em 1986 (Andebrhan *et al.* 1999). Entretanto, com a chegada da vassoura de bruxa, doença causada pelo agente etiológico *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora na região sul do estado da Bahia, em 1989, e a sua rápida disseminação devido às condições ambientais favoráveis, a situação da lavoura mudou rapidamente (Pereira *et al.* 1996). Atingindo proporções

epidêmicas, a doença acarretou uma redução drástica na produção, da ordem de 75% levando o país da condição de exportador a importador (Luz *et al.* 2006).

Por ser uma importante doença do cacau, vários trabalhos foram e vêm sendo efetuados na tentativa de controlá-la (Bastos 1989). Dentre as medidas de manejo integrado recomendadas está o uso de fungicidas químicos, que são usados muitas vezes de forma indiscriminada, poluindo o meio ambiente e causando danos a organismos não alvos (Ghini & Kimati 2000). O melhoramento genético também vem sendo utilizado como forma de controle, no entanto, a elevada concentração de inóculo no campo deixa a estabilidade e a durabilidade da resistência genética em constante risco (Luz *et*

1. Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). CEP 45662-900, Ilhéus, BA, Brasil.

2. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (Ceplac), Centro de Pesquisas do Cacau (Cepec), Seção de Fitopatologia (Sefit). CEP 45600-970, Itabuna, BA, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: larissa@uesc.br

al. 2006). Desta forma, pesquisas vêm sendo realizadas visando encontrar métodos alternativos de controle, que possam ser empregados no manejo econômico da cultura causando menor impacto ao meio ambiente.

Os produtos naturais de origem vegetal e seus análogos são uma importante fonte de novos defensivos agrícolas usados no controle de doenças de plantas, dentre eles, os óleos essenciais estão sendo amplamente testados no controle de diferentes fitopatógenos (Silva & Bastos 2007). Esta capacidade antimicrobiana, presente na grande maioria dos compostos secundários, de certa maneira representa uma extensão do próprio papel que exercem nas plantas, defendendo-as de bactérias e fungos fitopatogênicos (Janssen *et al.* 1987).

Estudando o efeito *in vitro* do óleo de *Piper aduncum* sobre *M. pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos, verificou-se 100% de inibição do crescimento miceliano e da germinação de basidiósporos de *M. pernicioso* nas concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente (Bastos 1997). Além disso, pesquisas desenvolvidas com extratos brutos ou óleos essenciais obtidos a partir de plantas aromáticas também confirmam o potencial das mesmas no controle de diversos fitopatógenos (Silva & Bastos 2007, Diniz *et al.* 2008, Pereira *et al.* 2008a, Zacaroni *et al.* 2009).

Diante do exposto, este trabalho objetivou avaliar *in vitro* o efeito de diferentes concentrações dos óleos essenciais das espécies aromáticas *Ocimum. Selloi* Benth. (alfavaquinha), *Mentha arvensis* L. (hortelã japonesa) e *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry (cravo-da-índia) sobre o crescimento miceliano e germinação dos basidiósporos de *M. pernicioso*.

MATERIAL E MÉTODOS

A extração dos óleos essenciais foi realizada por meio de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, no Laboratório da Universidade Estadual de Santa Cruz (Uesc). Para este procedimento foram utilizadas as folhas secas de *Ocimum selloi* e *Mentha arvensis* cultivadas no Horto de Plantas Mediciniais da universidade, registradas no Herbário Uesc sob os números 2951 e 4209, respectivamente, e inflorescências secas de *Syzygium aromaticum*, comercializadas a granel na feira municipal e oriundas de cultivos comerciais de Ituberá na Bahia, por serem os órgãos vegetais de maior rendimento destas espécies. Após o processo de extração, os óleos essenciais foram acondicionados em frascos de vidro âmbar envoltos com papel alumínio, e mantidos sob refrigeração.

O fungo *Moniliophthora pernicioso* (isolado 1188 da micoteca do Laboratório de Fitopatologia Molecular do Mapa/Ceplac/Cepec/Sefit) foi previamente cultivado em meio BDA e mantido em incubadora tipo BOD a 25 ± 1 °C, por 10 dias, na Unidade de Biocontrole do Mapa/Ceplac/Cepec/Sefit. Após este período, discos de micélio ativo com seis milímetros de diâmetro foram retirados das bordas das placas e colocados invertidos

no centro de cada placa de Petri de nove centímetros de diâmetro, contendo as diferentes concentrações dos óleos essenciais de *O. selloi*, *M. arvensis* e *S. aromaticum*, previamente solubilizados em 200 μL de Tween 20 e incorporados ao meio de cultura BDA, de modo a se obter as concentrações finais de 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25 e 1,50 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Para as testemunhas, foram usadas placas de Petri contendo apenas BDA, controle absoluto, e placas contendo BDA misturado ao surfactante Tween 20, controle relativo. As placas foram seladas com papel aderente, identificadas e mantidas em incubadora tipo BOD a 25 ± 1 °C, no escuro, durante todo o experimento.

A avaliação do experimento iniciou após 48 h através de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas) realizadas a cada dois dias, até as colônias fúngicas atingirem $\frac{3}{4}$ do diâmetro da placa, o que ocorreu após 12 dias de incubação. O índice de crescimento miceliano (ICM), foi calculado pela fórmula modificada de Nakagava Maguire adaptada por Oliveira (1992), onde $\text{ICM} = [(C_1/N_1) + (C_2/N_2) + \dots + (C_n/N_n)]$, sendo C_1, C_2, C_n = crescimento miceliano do fungo na primeira, segunda e última avaliação; N_1, N_2, N_n = número de dias após a inoculação. Além disso, foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento miceliano através da fórmula: $\% = [(CT - Ct * 100) / CT]$, onde CT e Ct correspondem ao crescimento miceliano na testemunha e no tratamento, respectivamente, e a concentração inibitória mínima (CIM), que representa a menor concentração necessária para causar total inibição do crescimento miceliano dos fungos (Silva & Bastos 2007). Para análise do teste de crescimento miceliano, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), onde cada tratamento constou de seis repetições.

Para a avaliação do efeito inibitório dos óleos essenciais sobre a germinação dos basidiósporos de *M. pernicioso* foram utilizadas as mesmas doses dos três óleos essenciais testados no crescimento miceliano. Para tanto, foram utilizadas lâminas escavadas mantidas no interior de placas de Petri sobre papel de filtro umedecido com água destilada. Os óleos essenciais foram previamente solubilizados em 200 μL do surfactante Tween 20 e emulsionados em água destilada esterilizada, obtendo-se as concentrações finais de 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25 e 1,50 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Em cada lâmina foram depositados 100 μL das referidas concentrações dos óleos essenciais, acrescentando-se 30 μL da suspensão de basidiósporos de *M. pernicioso* na concentração de 1×10^5 basidiósporos mL^{-1} . Para as testemunhas foram feitas lâminas contendo 30 μL da mesma suspensão de basidiósporos utilizada no teste, na testemunha absoluta foi adicionada apenas 100 μL de água destilada, e na testemunha relativa, 100 μL de água destilada com surfactante de forma a manter a mesma concentração que os tratamentos anteriores. Após cinco horas de incubação a 25 ± 1 °C em incubadora tipo BOD, foi adicionada uma gota de azul de lactofenol-algodão de

algodão para observação microscópica da germinação. Foram considerados germinados todos os basidiósporos que apresentaram tubo germinativo, independente do seu comprimento. O delineamento experimental foi em DIC com quatro repetições, para cada tratamento, contando 100 esporos por cavidade, totalizando 400 esporos por tratamento. Para a análise estatística, calculou-se a porcentagem de esporos germinados em relação à testemunha absoluta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os óleos essenciais testados exerceram efeito inibitório sobre o crescimento miceliano de *M. perniciosa*, constatando-se uma redução gradativa do ICM com o aumento das concentrações aplicadas (Fig. 1 e Fig. 2).

Verificou-se total inibição do crescimento miceliano de *M. perniciosa* a partir da concentração de 0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para todos óleos testados, confirmados pela CIM observada entre as doses de 0,50 e 0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ (Tab. 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Silva & Bastos (2007) ao avaliarem *in vitro* a atividade fungitóxica do óleo essencial de *Piper callosum*, a partir da concentração de 0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ e do óleo de *Piper marginatum var. anisatum*, a partir da concentração de 1 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, conseguindo 100% de inibição do crescimento miceliano de *M. perniciosa*. A ação fungicida do óleo de *M. arvensis* testado nesse trabalho foi também comprovada por Diniz *et al.* (2008) ao adicionarem um disco de papel filtro (1 cm de diâmetro) com 100 μL do óleo essencial de *M. arvensis* no centro das placas de Petri contendo os fungos fitopatógenos *Aspergillus sp.*, *Penicillium rubrum*, *Sclerotinia sp.*, *Fusarium moniliforme* Cepa UEM e *Corynespora cassiicola*.

Os tratamentos referentes ao óleo essencial de *S. aromaticum* nas concentrações acima de 0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ apresentaram um comportamento diferenciado com a formação de um halo de “cor caramelo”, cuja origem e

composição ainda não foram determinados. Para verificar se havia crescimento miceliano do patógeno nessa região, foi realizado um teste de viabilidade com a repicagem de discos em novo meio BDA. Observou-se ausência de crescimento miceliano na região avaliada confirmando a inatividade de *M. perniciosa* sob efeito do óleo essencial de *S. aromaticum*.

Com relação à ação sobre os basidiósporos de *M. perniciosa*, verificou-se que todos os óleos essenciais testados tiveram ação sobre a germinação dos basidiósporos apresentando inibição total a partir da concentração de

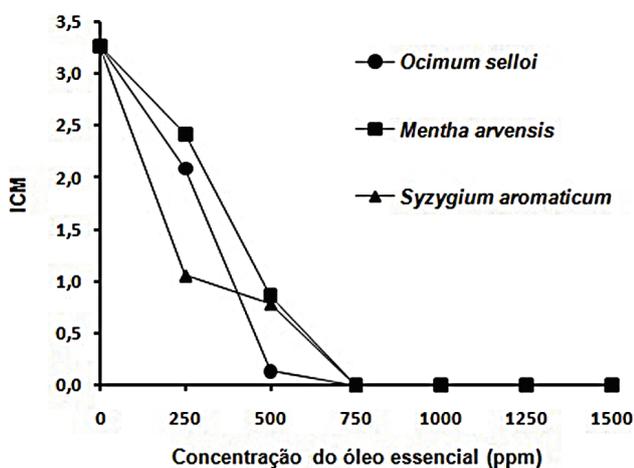


Figura 1. Índice de crescimento miceliano (ICM) de *Moniliophthora perniciosa* em diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Ocimum selloi*, *Mentha arvensis* e *Syzygium aromaticum*.

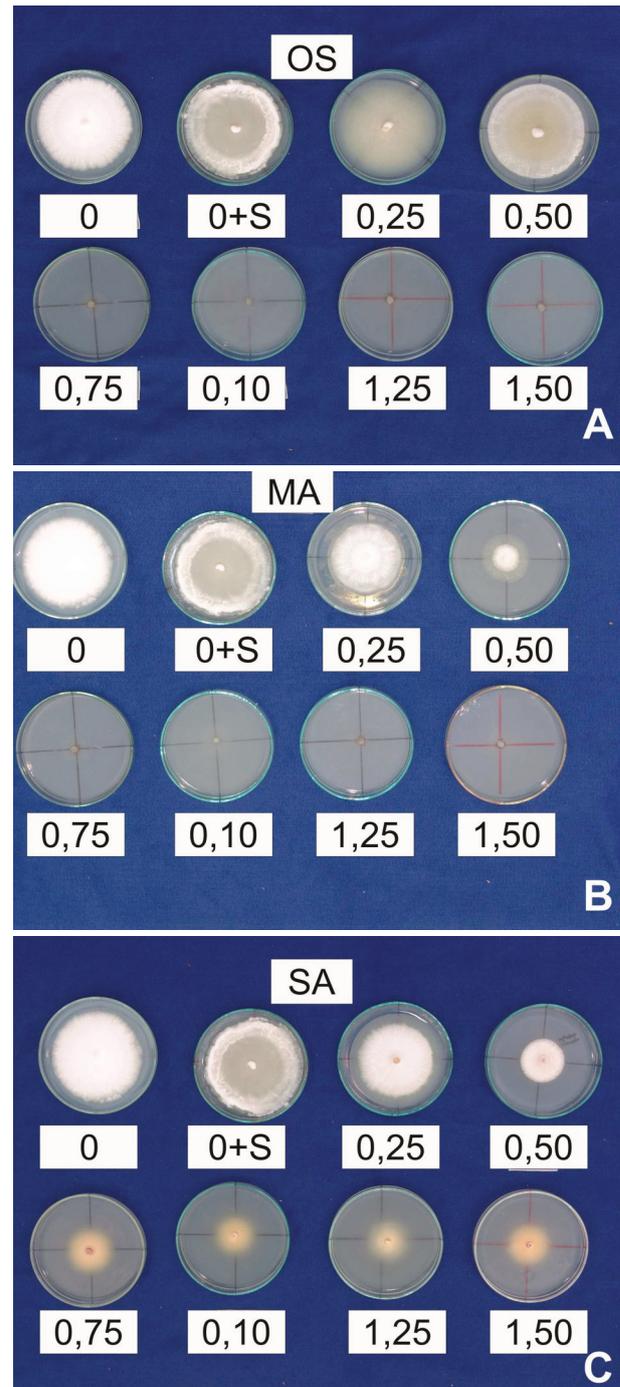


Figura 2. Avaliação do crescimento miceliano de *Moniliophthora perniciosa* em diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Ocimum selloi* (A), *Mentha arvensis* (B) e *Syzygium aromaticum* (C).

Tabela 1. Porcentagem média de inibição de crescimento miceliano de *Moniliophthora perniciosa* em diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Ocimum selloi*, *Mentha arvensis* e *Syzygium aromaticum* e concentração inibitória mínima (CIM).

Tratamento	Concentração ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)						CIM
	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25	1,50	
	% inibição						
<i>Ocimum selloi</i>	0,4	57,1	100	100	100	100	0,75
<i>Mentha arvensis</i>	28,1	49,3	100	100	100	100	0,75
<i>Syzygium aromaticum</i>	8,6	87,2	100	100	100	100	0,75

Tabela 2. Porcentagem média de inibição da germinação de basidiósporos de *Moniliophthora perniciosa* em diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Ocimum selloi*, *Mentha arvensis* e *Syzygium aromaticum*.

Tratamento	Concentração ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)							
	*0	*0+S	0,25	0,50	0,75	1,00	1,25	1,50
	% germinação							
<i>Ocimum selloi</i>	100	86	90	42	0	0	0	0
<i>Mentha arvensis</i>	100	86	44	32	8	0	0	0
<i>Syzygium aromaticum</i>	100	86	44	20	0	0	0	0

* 0, controle: água destilada; 0+S, controle relativo: água + surfactante.

0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ de *O. selloi* e *S. aromaticum*, e de 1,00 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ de *M. arvensis* (Tab. 2). Os óleos essenciais apresentam eficiência no controle de doenças, tanto por sua ação fungitóxica, que inibe o crescimento miceliano e a germinação de esporos, quanto pela presença de compostos eliciadores (Pereira *et al.* 2008a). Ao avaliarem a composição química do óleo essencial de *Mentha arvensis*, Deschamps *et al.* (2006) identificaram o α -terpineol (9,6%) como principal constituinte, sendo os demais constituintes presentes em menores concentrações. Na análise da composição do óleo essencial de *O. selloi* realizada por Gonçalves *et al.* (2003) foi identificado o estragol e o anetol como compostos majoritários deste óleo e segundo Pereira *et al.* (2008b) o constituinte majoritário do óleo de *S. aromaticum* é o eugenol, que pode ser o responsável pelo efeito inibitório do óleo essencial sobre bactérias, sendo muito utilizado como antisséptico.

Vários estudos têm comprovado o efeito de compostos isolados extraídos de óleos essenciais de plantas que atuam como fungicidas naturais inibindo a atividade fúngica e, um número significativo destes constituintes tem se mostrado eficaz (Chao & Young 2000). Apesar disto, não se pode atribuir a ação fungicida dos óleos essenciais testados neste trabalho exclusivamente ao efeito dos compostos majoritários sem fazer um estudo da sua ação isolada, pois esta atividade também pode ser decorrente do efeito de algum outro componente minoritário ou de um sinergismo entre os mesmos.

Verificamos neste estudo que os óleos essenciais de *O. selloi*, *M. arvensis* e *S. aromaticum* têm ação fungitóxica direta no crescimento miceliano de *M. perniciosa*, inibindo-o totalmente a partir da concentração de 0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para todos os óleos essenciais testados, e na germinação dos basidiósporos de *M. perniciosa*, causam 100% de inibição nas concentrações de 1,00 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para o óleo de *M. arvensis*, e 0,75 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para os óleos de *O. selloi* e *S. aromaticum*. Isto demonstra que os óleos essenciais das plantas *O. selloi*, *M. arvensis* e *S. aromaticum* são promissores como uma al-

ternativa para o controle de *M. perniciosa*, contribuindo para redução do uso de fungicidas e, conseqüentemente, um menor impacto ao ambiente. Estudos em câmaras de crescimento e casa de vegetação, testando intervalos de aplicação e diferentes formulações, já estão sendo conduzidos para confirmação destes resultados *in vivo*.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Pesquisas do Cacau (Mapa/Ceplac/Cepec), especialmente à Virginia Oliveira Damasceno, Lindolfo Pereira dos Santos-Filho e ao Prof^o. Dr. José Luiz Bezerra. À Universidade Estadual de Santa Cruz (Uesc), pelo apoio no desenvolvimento dos experimentos. Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

- ALVERSON, W.S., WHITLOCK, B.A., NYFFELER R., BAYER, C. & BAUM, D.A. 1999. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *American Journal of Botany*, 86: 1474-1486.
- ANDEBRHAN, T., FIGUEIRA, A., YAMADA, M.M., CASCARDO, J. & FURTEK, D.B. 1999. Molecular fingerprinting suggests two primary outbreaks of witches' broom disease (*Crinipellis perniciosa*) of *Theobroma cacao* in Bahia, Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 105: 167-175. DOI: 10.1023/A:1008716000479.
- APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. The Linnean Society of London. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141: 399-436.
- BASTOS, C.N. 1989. Avaliação de fungicidas sistêmicos no controle da vassoura de bruxa do cacauero. *Agrotropica*, 1(2): 128-132.
- BASTOS, C.N. 1997. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis perniciosa* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, 22(3): 441-443.
- CHAO, S.C. & YOUNG, D.G. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*, 12: 630-649.
- DESCHAMPS, C., ZANATTA, J.L., ROSWALKA, L., OLIVEIRA, M.C., BIZZO, H.R. & ALQUINI, Y. 2006. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L. *Ciência e Natura*, 28(1): 23-34.
- DINIZ, S.P.S.S., COELHO, J.S., ROSA, G.S., SPECIAN, V., OLIVEI-

- RA, R.C. & OLIVEIRA, R.R. 2008. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogênicos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 10(4): 9-11.
- GHINI, R. & KIMATI, H. 2000. *Resistência de fungos a fungicidas*. Embrapa Meio Ambiente. 78 p.
- GONÇALVES, L.A., BARBOSA, L.C.A., AZEVEDO, A.A., CASALI, V.W.D. & NASCIMENTO, E.A. 2003. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi*) em resposta a dois níveis de radiação solar. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 6(1): 8-14.
- JANSSEN, A.M., SCHEFFER, J.J. & BAERHEIM-SVENDSEN, A. 1987. Antimicrobial activities of essential oils. *Pharmacy Week*, 9: 193-197.
- LUZ, E.D.M.N., SOUZA, J.T., OLIVEIRA, M.L., BEZERRA, J.L. & ALBUQUERQUE, P.S.B. 2006. Vassoura de bruxa do cacauzeiro: novos enfoques sobre uma velha doença. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 14: 59-111.
- OLIVEIRA, J.A. 1992. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.). *Ciência e Prática*, 16(1): 42-47.
- PEREIRA, J.L.A., ALMEIDA, L.C.C. & SANTOS, S.M. 1996. Witches' broom disease of cocoa in Bahia: Attempts at eradication and containment. *Crop Protection*, 15: 743-752.
- PEREIRA, R.B., ALVES, E., JÚNIOR, P.M.R., RESENDE, M.L.V., LUCAS, G.C. & FERREIRA, J.B. 2008a. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(10): 1287-1296.
- PEREIRA, A.A., CARDOSO, M.G., ABREU, L.R., MORAIS, A.R., GUIMARÃES, L.G.L. & SALGADO, A.P.S.P. 2008b. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(3): 887-93.
- SILVA, D.M.H. & BASTOS, C.N. 2007. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Piper sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. *Fitopatologia Brasileira*, 32(2): 143-145.
- ZACARONI, L.M., CARDOSO, M.G., SOUZA, P.E., PIMENTEL, F.A., GUIMARÃES, L.G.L. & SALGADO, A.P.S.P. 2009. Potencial fungitoxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta-longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta Amazonica*, 39(1): 193-198.